



#4

## PATENT APPLICATION

## IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of

Naoki YAMAMORI

Appln. No.: 09/899,212

Group Art Unit: Not yet designated

Confirmation No.: Not yet designated

Examiner: Not yet designated

Filed: July 6, 2001

For: BIOJELLY-PRODUCING MICROORGANISM, MICROORGANISM-CONTAINING  
COATING, MICROORGANISM-CONTAINING COATING FILM, AND METHOD  
OF PREVENTING ATTACHMENT OF LIFE

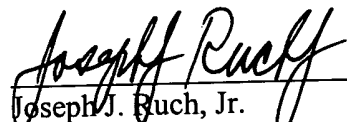
**SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENTS**

Commissioner for Patents  
Washington, D.C. 20231

Sir:

Submitted herewith are certified copies of the priority documents on which claims to  
priority were made under 35 U.S.C. § 119. The Examiner is respectfully requested to  
acknowledge receipt of said priority documents.

Respectfully submitted,

  
Joseph J. Buch, Jr.  
Registration No. 26,577

SUGHRUE, MION, ZINN,  
MACPEAK & SEAS, PLLC  
2100 Pennsylvania Avenue, N.W.  
Washington, D.C. 20037-3213  
Telephone: (202) 293-7060  
Facsimile: (202) 293-7860

Enclosures: Japan 2000-206228  
Japan 2000-206229

Date: July 25, 2001



日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 7月 7日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-206229

出 願 人

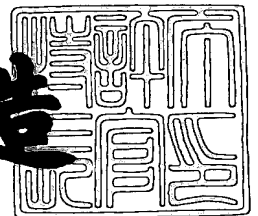
Applicant(s):

日本ペイント株式会社

2001年 6月26日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3060056

【書類名】 特許願  
【整理番号】 00-00207  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 C09D 5/16  
【発明者】

【住所又は居所】 大阪府寝屋川市池田中町 1 9 番 1 7 号 日本ペイント株式会社内

【氏名】 山盛 直樹

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府寝屋川市池田中町 1 9 番 1 7 号 日本ペイント株式会社内

【氏名】 原田 昭夫

【特許出願人】

【識別番号】 000230054

【氏名又は名称】 日本ペイント株式会社

【代理人】

【識別番号】 100086586

【弁理士】

【氏名又は名称】 安富 康男

【選任した代理人】

【識別番号】 100104813

【弁理士】

【氏名又は名称】 古谷 信也

【選任した代理人】

【識別番号】 100108431

【弁理士】

【氏名又は名称】 村上 加奈子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 033891

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9705385

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 微生物含有塗料、微生物含有塗膜及び付着防止方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 *Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生する微生物を含有することを特徴とする塗料。

【請求項2】 微生物は、FERM P-17821 株である請求項1記載の塗料。

【請求項3】 *Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生する微生物を含有することを特徴とする塗膜。

【請求項4】 微生物は、FERM P-17821 株である請求項3記載の塗膜。

【請求項5】 水中の構造体に対する大型水棲生物の付着防止方法であって、前記構造体の表面に、請求項1又は2記載の塗料を塗布することを特徴とする付着防止方法。

【請求項6】 水中の構造体に対する大型水棲生物の付着防止方法であって、前記構造体の表面に、請求項3又は4記載の塗膜を形成してなることを特徴とする付着防止方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、バイオゼリーを産生する微生物を含有する塗料及び塗膜、並びに、上記塗料又は塗膜を使用する大型水棲生物の付着防止方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

船舶、漁網、その他の水中構造物等には、フジツボ、イガイ、藻類等の水棲生物が付着しやすく、それによって、船舶等では効率のよい運航が妨げられ、燃料の浪費を招いたり、漁網等では目詰まりが起こったり、耐用年数が短くなる等の問題が生じる。

水中構造物には、フジツボ、イガイ、藻類等の大型の水棲生物の他にも、水中の

微生物やその代謝産物等によって形成されるぬめり感のある薄膜層（スライム層）も形成され、従来は、この薄膜層は汚染物質の 1 種として除去されてきた。

【0003】

しかし、一方では、上記の薄膜層が形成された水中構造物は、逆に、大型の水棲生物が付着し難いことを利用した技術も報告されている。特開平 8-133920 号公報には、上記のような薄膜層のうち 0.3 mm 以上のものをバイオゼリーと呼び、このバイオゼリー層を水中の構造物表面に形成させてなる大型水棲生物付着防止方法が開示されている。

【0004】

特開平 8-81308 号公報及び特開平 8-92009 号公報には、桂皮酸系、シラン系、ベンジリデンアニリン系化合物を含む塗料を水中構造物に塗装することによって、上記のようなバイオゼリー層を形成させることができることが開示されている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、微生物を含有する塗膜を水中構造物上に形成させた場合に、水中にて、バイオゼリーを産生し、大型水棲生物に対する防汚効果を発揮する塗料及び塗膜、並びに、上記塗料又は塗膜を使用する大型水棲生物の付着防止方法を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明は、*Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生する微生物を含有することを特徴とする塗料である。

本発明はまた、*Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生する微生物を含有することを特徴とする塗膜である。

本発明は更に、水中の構造物に対する大型水棲生物の付着防止方法であって、上記構造物の表面に、上記塗料を塗布するか、又は、上記塗膜を形成してなることを特徴とする付着防止方法でもある。

以下、本発明を詳述する。

## 【0007】

本発明者らは、桂皮酸系、シラン系、ベンジリデンアニリン系化合物をバイオゼリー形成剤として使用して形成させたバイオゼリーから、*Alteromonas* 属に属する微生物を単離し、この微生物を含む塗料は、水中構造体に塗布して塗膜を形成させた場合に、水中にて、大型水棲生物に対する防汚効果を発揮することを見だし、本発明を完成した。

## 【0008】

本発明において、バイオゼリーとは、*Alteromonas* 属に属する微生物が産生するスライム状又はゼリー状の物質であって、それが水中にある構造体に形成されたときに、大型水棲生物が付着することを防止することができるものを意味するものである。

## 【0009】

上記バイオゼリーを産生するか否かについては、以下の確認試験により行うことができる。即ち、 $3 \times 10^{10}$  cell/ml の微生物を含む溶液 1 重量部、分子量 13000 のポリアクリルアミド 10 重量%水溶液 70 重量部、エチレングリコールジメタクリレート 10 重量部及び過硫酸アンモニウム 0.5 重量部を混合し、TEMED 0.2 重量部を加えたものをアクリル板上に塗布し、窒素雰囲気下室温で 2 時間放置して成膜する。これを海水中に浸漬し、1 か月放置して、スライム状又はゼリー状の物質がアクリル板上に存在しており、かつ、大型水棲生物が付着していないものをバイオゼリー産生微生物とすることができる。

## 【0010】

上記大型水棲生物とは、水中にある構造物に付着し、個体が目視観察することができる大きさに成長する生物を意味するものであり、例えば、フジツボ、イガイ、カキ、ヒドロ虫、コケムシ、ホヤ、セルブラ等の動物；アオサ、シオミドロ等の植物を挙げることができる。

## 【0011】

本発明において使用される微生物としては、*Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生するものであれば特に限定されず、例えば、SHY1-1 株等を挙げることができる。上記 SHY1-1 株は、ベンジリデ

ンアニリン粉末を入れ、フィルターで封をしたシャーレを15℃の海水に浸漬し、2週間後、フィルターの表面に形成されたバイオゼリーから、本発明者らによって単離されたものであり、バイオゼリーを有利に産生する特性を有するものである。

#### 【0012】

上記SHY1-1株は、図1に示す形態を有しており、1本の極鞭毛により運動する海洋性の非発酵性グラム陰性桿菌である。また、塩化ナトリウムを海水濃度程度にまで増量した栄養塩培地にて良好に増殖し、多糖を生産する。生育可能温度は、5～35℃であり、生育最適温度は、30℃付近である。生育可能pHは、pH3～9であり、生育最適pHは、中性付近である。培養は、振盪培養及び静置培養が可能であるが、振盪培養の方が増殖良好である。静置培養では、バイオゼリーと思われる薄膜が観察される。

また、上記SHY1-1株は、下記表1に示す菌学的性質を有する。表中、菌体内DNAのGC含量は、HPLC法によって測定したものである。また、NPは特徴的集落色素を生成しなかったことを表す。

#### 【0013】



【表1】

試験項目	試験結果
形態	桿菌
グラム染色性	—
孢子	—
運動性	+
鞭毛	極毛
酸素に対する態度	好気性
オキシダーゼ	+
カタラーゼ	+
OF	—
集落の色調	NP
Na <sup>+</sup> 要求性	+
塩類要求性	+
0 %NaCl培地での生育	—
1 %NaCl培地での生育	—
海水培地での生育	+
資化性	
メタノール	—
DL-リンゴ酸	—
グルコース	+
主要キノン系	Q-8
菌体内DNAのGC含量 (mol%)	44

## 【0014】

上記の性質に基づいて、“Bergey's Manual of Systematic Bacteriology” Krieg, N. R. and Holt, J. G., Vol. 1 (1986) Williams & Wilkins、及び、“Bergey's Manual of Determinative Bacteriology” Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T., 9th Edition (1994) Williams & Wilkins 等の参考文献から、SHY1-1株は、*Alteromonas* 属に属する微生物と同定した。しかし、特徴的集落色素を生成しなかったことから、種の同定を行うことはできなかった。

しかしながら、*Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生する微生物については、これまで報告がないことから、本発明者らはこ

れを新菌株とし、SHY 1-1 株と表示して、通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所（あて名：茨城県つくば市東1丁目1番3号）に、寄託番号FERM P-17821 株（寄託日：平成12年4月20日）として寄託した。

【0015】

本発明において使用される微生物としては、上記FERM P-17821 株の他に、FERM P-17821 株の自然的又は人工的変異株、その他の *Alteromonas* 属に属する菌種等であって、バイオゼリーを産生することができるものも挙げることができる。

【0016】

上記微生物は、塗料中に配合し、水中構造体上に塗膜を形成した場合、海水中において、バイオゼリーを産生し、大型水棲生物が付着することを防止することができる。

上記塗料中に配合する微生物としては、微生物を液体培地等で培養した培養物の形態であってもよいし、培養物から遠心分離等によって得られる微生物そのものであってもよい。

【0017】

上記塗料中に配合する場合には、塗料100g中、 $10^4$  以上の菌体を配合することが好ましい。 $10^4$  未満であると、塗膜を形成した場合に、海水中で上記微生物が増殖してバイオゼリー層を形成するより前に、大型水棲生物の付着が起こる場合がある。好ましくは、 $10^8$  以上である。

上記塗料は、水中構造体に、ロールコーター、刷毛塗り等によって、膜厚50～2000  $\mu\text{m}$  になるように塗布することが好ましい。より好ましくは、膜厚100～500  $\mu\text{m}$  である。

【0018】

上記微生物を塗膜中に固定化する方法としては、微生物が塗膜中で生存できる方法であれば特に限定されず、例えば、共有結合等によって不溶性担体に結合させる担体結合法；架橋法；格子型又はマイクロカプセル型の包括法等を挙げることができる。

上記架橋法としては、多糖類（キチン、キトサン、アルギン酸、寒天、グアーガ

ム等) やタンパク質 (ミルクカゼイン、セラチン、ポリリジン、ポリグルタミン酸等) 等の生体由来高分子を 2 種以上組み合わせて塗膜としたもの ; グルタルアルデヒド等の二以上の官能基を持つアルデヒド類やカルボン酸類の架橋剤によって 1 種以上の生体由来高分子を架橋させて塗膜としたもの等を挙げることができる。

#### 【 0 0 1 9 】

更に、ラジカル重合を利用したヒドロゲルを利用することもでき、例えば、ジビニルベンゼンジ (メタ) アクリレート、ビスアクリルアミド、エチレングリコールジメタクリレートによって架橋したポリヒドロキシエチルメタクリレート、ポリアクリルアミド等も挙げることができる。

#### 【 0 0 2 0 】

本発明において、上記微生物を含む塗料の形態としては、微生物が生存し得るような塗料形態であれば特に限定されないが、上記の微生物を塗膜中に固定化する際に用いる試薬の性質及び試薬と微生物との相性等を考慮して選択することができる。例えば、ビスアクリルアミドによって架橋したポリアクリルアミドを塗膜形成成分として利用する場合には、アクリルアミドモノマー自体が微生物に有害であり、微生物とモノマーとを混合した状態では室温等での長期保存に適さないため、微生物と塗膜形成成分を別々の容器に保存しておき、使用時に混合して塗膜を形成する 2 液型又はそれ以上の塗料形態とすることが好ましい。また、多糖類やタンパク質等の生体由来高分子を塗膜形成成分として利用する場合には、生体由来高分子と微生物とを同じ容器に入れた塗料の形態とすることも可能である。

#### 【 0 0 2 1 】

本発明の塗料及び塗膜は、船舶、漁網等の水中構造物に対して好適に使用することができ、海洋等の水中において、水中構造物上にバイオゼリーが産生されるので、フジツボ、イガイ、アオサ等の大型水棲生物の付着を防止することができる。

#### 【 0 0 2 2 】

#### 【実施例】

以下に実施例を掲げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。

#### 実施例 1

SHY1-1株 (FERM P-17821) を液体培地 (バクトトリプトン 10 g/L、酵母エキス 5 g/L、NaCl 24 g/L) 中にて、30℃で2日間振盪培養を行った。この培養液中の生菌数は生菌数計測法で  $3 \times 10^{10}$  cell / ml であった。これを培養液 A とする。

培養液 A を 1 ml、分子量 13000 のポリアクリルアミド 10% 水溶液 70 g、エチレングリコールジメタクリレート 10 g、過硫酸アンモニウム 0.5 g を 15℃で混合し、次に TEMED 0.2 g を加えアクリル板上に塗布し、窒素雰囲気下室温で2時間放置し、成膜した。これを塗膜 1 とする。

【0023】

#### 実施例 2

アルギン酸 3% 水溶液 70 g に 5% アンモニア水溶液 20 g を加え攪拌後、培養液 A を 0.7 ml、キトサン 3% 水溶液 50 g を加え混合し、アクリル板上に塗布し、室温で3時間放置し、成膜した。これを塗膜 2 とする。

【0024】

#### 実施例 3

2-ヒドロキシエチルメタクリレート 40 g、培養液 A 1 ml、NaCl の 10% 溶液 70 g、エチレングリコールジメタクリレート 5 g、過硫酸アンモニウム 0.5 g を 15℃で混合し、次に TEMED 0.2 g を加えアクリル板上に塗布し、窒素雰囲気下、室温で2時間放置し、成膜した。これを塗膜 3 とする。

【0025】

#### 実施例 4

キトサン 5% 水溶液 100 g、NaCl 5 g、培養液 A 1.2 ml を加え混合した。この溶液中にグルタルアルデヒド 0.5 g を加え混合後アクリル板上に塗布し室温で3時間放置し、成膜した。これを塗膜 4 とする。

【0026】

#### 比較例 1

実施例 1 の培養液 A を加えない他は、実施例 1 と同様に塗膜を作成した。これを比較塗膜とする。

【0027】

防汚性評価

玉野市日本ペイント社臨海研究所沖の筏（瀬戸内海）で塗膜 1 ～ 4 及び比較塗膜を浸漬し、大型水棲生物の付着状態を目視観察した。その結果を表 2 に示す。表の数字は、生物付着面積（％）を表す。

1 か月後には、塗膜 1 ～ 4 については、約 2 mm の厚さのバイオゼリーが認められた。

【0028】

【表 2】

浸漬期間	塗膜 1	塗膜 2	塗膜 3	塗膜 4	比較塗膜
1ヶ月	0	0	0	0	10
3ヶ月	0	0	0	0	100
6ヶ月	0	0	0	0	100

【0029】

【発明の効果】

本発明によれば、微生物を含む塗料を水中構造物に塗布して塗膜を形成させた場合、海水中にて、その表面にバイオゼリーを形成し、フジツボ、イガイ、アオサ等の大型水棲生物が水中構造物に付着するのを防止することができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

S H Y 1 - 1 株の光学顕微鏡写真である。

【書類名】 図面

【図 1】



【書類名】                    要約書

【要約】

【課題】    微生物を含有する塗膜を水中構造体上に形成させた場合に、水中にて、バイオゼリーを産生し、大型水棲生物に対する防汚効果を発揮する塗料を提供する。

【解決手段】    *Alteromonas* 属に属する微生物であって、バイオゼリーを産生する微生物を含有することを特徴とする塗料。

【選択図】                    なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2000-206229
受付番号	50000855310
書類名	特許願
担当官	第六担当上席 0095
作成日	平成12年 7月11日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成12年 7月 7日



出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000230054]

1. 変更年月日

1990年 8月 6日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府大阪市北区大淀北2丁目1番2号

氏 名

日本ペイント株式会社